Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.
Vorstand: Prof. Dr. M. Knorr.

Beobachtungen über das Verhalten des Bakterium Coli in Wasserproben

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Helmut Kraft
aus Schirmeck.

1939

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
Würzburg.

Referent: Prof. Dr. M. Knorr.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Bedeutung der Wasseruntersuchung.

Bei der Bedeutung des Wassers als Nahrungsmittel und für die Bereitung von Genußmitteln, ist die Frage der Wasserbeurteilung ein Gebiet, das vor allem das Interesse sowohl der chemisch-physikalischen als erst recht auch der bakteriologischen Forschung in Anspruch nimmt.

Es würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten, die Zusammenhänge dieser Forschungen und ihrer Entwicklung aufzuführen. Jedoch lassen sich die Grundanforderungen, die man an ein Trinkwasser, das als hygienisch einwandfrei gelten soll, stellt, nach obigen Untersuchungsmethoden im folgenden kurz zusammenstellen.

Anforderungen an ein Trink- und Gebrauchswasser.

1. Es darf nicht zur Krankheitsursache werden.
2. Es soll appetitlich, frisch und reichlich sein.
3. Es soll nicht zu hart sein und höchstens Spuren von Eisen oder Mangan enthalten.

In den hierzu geltenden amtlichen Bestimmungen ist zu Nr. 1 folgende Übereinkunft getroffen:

1. soll die allgemeine Keimzahl in einem ccm nicht über 100 gehen; und
2. soll das Bact. coli nicht darin enthalten sein.

Wenn man nach diesen Anforderungen ein Wasser überprüft, muß man sich jedoch bewußt sein, daß jede Untersuchung nur Grundlage sein kann für die Beurteilung eines bei der Entnahme gegebenen, also zeitlich begrenzten Zustandes. Daher ist die Ortsbesichtigung mit einer der wichtigsten Punkte für die Beurteilung eines Trink- und Gebrauchswassers.

Die bakteriologischen Untersuchungen lassen sich zumeist nicht an Ort und Stelle durchführen. Es ist also erforderlich, daß die Wasserproben nach einer Untersuchungsstätte verbracht werden. In der vom Bayer. Ministerium d. Innern herausgegebenen Arbeitsordnung für bakteriologische Untersuchungsanstalten steht hierzu folgendes:

Gesetzliche Bestimmungen.

Die Stunde der Probeentnahme ist mit Rücksicht auf die Bahn- und Postverbindungen so zu wählen, daß zwischen Entnahme der Probe und ihrer Verarbeitung kein Zeitverlust entsteht.

Die H. Dv. 193/3 A 1 schreibt vor:

Die Proben müssen auf schnellstem Wege zur Untersuchungsstätte befördert werden, sodaß sie am Entnahmetag noch verarbeitet werden können. Diese Angaben allein geben schon einen großen Spielraum, der sich in der Praxis noch weiter ausdehnen wird.

Themastellung (allgemein)

Aber selbst bei bester Beobachtung dieser Transportbestimmungen vergeht eine Zeitspanne, in der sich andere Verhältnisse bei der bakteriologischen Untersuchung ergeben können als tatsächlich bei der Entnahme vorhanden waren.

Der Überprüfung dieser Frage galten folgende Untersuchungen:

Bakterium Coli als Indikator.

Nach einigen Voruntersuchungen verschiedener Brunnen auf allgemeine Keimzahl, Bakterium Coli und die chemischen Verhältnisse, die mich mit der Methode vertraut machen sollten und mir einen Einblick gaben in die Zusammenhänge und Vielzahl der Fragen, beschränkte ich mich auf das Verhalten des Bakterium Coli, in dem man heute den Anhaltspunkt für den Grad der Infektionsgefährlichkeit eines Wassers sieht. Als Ursache jeder Trinkwasserinfektion kommen praktisch nur menschliche und tierische Auscheidungen in Frage. Da als Begleiter der pathogenen Krankheitserreger immer auch das Bakterium Coli als regelmäßiges Darmbakterium ausgeschieden wird, so läßt seine Anwesenheit im Trinkwasser immer die Möglichkeit einer Infektion offen für die durch das Wasser verbreiteten Krankheitserreger von Typhus, Paratyphus, Cholera und unspezifischen Darmerkrankungen.

Coli-Frage.

Die Bedeutung dieser Ansicht ist in der Literatur sehr umstritten. M. K a i s e r gibt eine anschauliche Zusammenstellung über die Einstellung der verschiedenen Autoren. Die Ansichten in dieser Frage bewegen sich mit allen Zwischenlösungen von Extrem zu Extrem.

Ursprünglich galt das Bakt. Coli für ubiquitär, man nahm an, daß es in jedem Wasser zu finden sei, mit der Zeit aber sprach man ihm die anfangs erwähnte Sonderstellung als Indikator zu. Die Ursachen dieser Verschiedenheit mögen — wie L a n g e bereits festgestellt —

zu suchen sein in der Methode der einzelnen Untersuchungen und wieweit man einem gewissen Artbegriff einen Sammelbegriff gegenüberstellt. Nachdem man nun in neuerer Zeit bestimmte Anforderungen an das Bakt. coli commune stellte, hat sich die Frage dahin entschieden, daß das Bact. coli commune nicht ubiquitär ist, sondern nur da weit verbreitet ist, wo es durch Mensch oder Tier verschleppt worden ist. Es kommt nur dann als ein dem Wasser fremder Organismus darin vor, wo 1. die Selbstreinigung des Wassers oder die Filtration des Erdbodens nicht ausreicht, oder wo 2. hygienische Vorkommen typischer Colibakterien sicher als Gefahrenquelle zu werten, vor allem dann, wenn zusätzlich eine gesteigerte Keimzahl festzustellen ist. Es ist daher wünschenswert, möglichst quantitativ genaue Werte zu erhalten.

Eigenschaften des typischen Bact. coli.

Die Anforderungen, die man im allgemeinen an ein typisches Bact. coli stellt, waren maßgebend für die reinen Kulturversuche, bei denen nur Stämme verwendet wurden, die sowohl aus Wasser als auch direkt aus Fäkalien gewonnen waren und folgenden Ansprüchen genügten:

3. Leistungsmäßig: Indol bildend, Milch und Traubenzucker tum; matt glänzender irisierender Schimmer; auf Drigalski-Platten durchscheinend, Metall-Glanz, säurebildend.

2. Mikroskopisch: Gram-negatives kurzes, plumpes Stäbchen mit Eigenbewegung.

3. Leistungsmäßig: Indol bildend, Milch und Traubenzucker unter Gas und Säure vergärend, und bei Neutralrotagar Fluoreszenz hervorrufend.

Bei der Zählung der Coli-Keime aus Wasserproben auf Drigalski-Platten war ich nicht so genau, sondern zog nur in entscheidenden Zweifelsfällen die bunte Reihe zur Charakterisierung hinzu, da bei der Neigung der Colibakterien zu Veränderungen innerhalb der chemischen Leistungen die Abgrenzung zu schwierig geworden wäre, was dem Sinne einer praktischen Untersuchungsmethode nicht entsprechen würde.

Wasserproben.

Es hatte sich nun bei den Voruntersuchungen ergeben, daß bei den Wasserbakterien im großen und ganzen eine Zunahme der Außentemperatur der Vermehrung der Wasserbakterien günstig ist, eine Abnahme ihre Vermehrung herabsetzte. Diese Fragen waren wichtig,

weil sie in Beziehung standen zu der Aufbewahrungsmöglichkeit zwischen Entnahme und Verarbeitung im Labor. Die bisher allgemein übliche Form der Verschickung von Wasserproben ist so, daß entweder die Verschickung in einer sterilen Thermosflasche stattfindet, wie es Fr. Schübel in seiner Arbeit beschreibt, oder in besonderen Kästen, die mit Eis gefüllt werden und die eine Temperatur von ungefähr 4° halten.

Schrifttum.

Über das Verhalten des Bact. coli in solchen Wasserproben finden sich im Schrifttum nur wenige Angaben. Nach einer 1929 erschienenen amerikanischen Arbeit von G. Ellison, H. W. Hachler und W. A. Buice scheint es den Verfassern von untergeordneter Bedeutung zu sein, ob die Probe während des Transportes auf Eis gehalten wurde oder nicht, da sich keine qualitativen Unterschiede ergaben. Dieser Veröffentlichung steht eine Arbeit von E. Cadwell u. Parr gegenüber, die bei der Aufbewahrung auf Eis eine Schädigung des Colibakteriums angeben. A. Platt gibt ein langsames Abnehmen bis zu völligem Verschwinden, das abhängig von der Temperatur ist, an. Reichenbach schreibt, daß das Bakterium bei einer Aufbewahrung auf Eis keinerlei wesentliche Veränderung erleide. Wolfhügel-Riedel schließen aus ihrer Arbeit, daß eine Vermehrung bei 6° verhütet sei und Barber gibt eine Vermehrung bei 10° an.

Thema.

So ergab sich hier ein Gebiet, das der Bearbeitung wert erschien. Es galt also festzustellen, ob das Bact. coli voll durch die heutige Methode der Probeentnahme und Versendung so verändert werden kann, was die Zahl anbetrifft, daß sich bei der Untersuchung wesentlich andere Verhältnisse ergeben als es dem wirklichen Tatbestand entspricht. Ich stellte daher Versuchsarbeiten auf, bei denen ich folgende Methode der Verarbeitung wählte:

Methode.

Das Zählverfahren wurde auf Drigalski-Platten durchgeführt, normalerweise wurde eine Platte mit 1 ccm Wasserprobe + 5 ccm keimfreien Wassers ähnlicher Beschaffenheit beimpft, wobei darauf geachtet wurde, daß die Temperatur jeweils der entsprechenden Versuchstemperatur entsprach, damit Fehler durch augenblicklichen Wärme- oder Kälteschreck ausgeschaltet wurden. Die Platten wurden im Faust-Heim'schen Trocken-Apparat bei 45—50° getrocknet und 48

Stunden im Brutschrank von 37° bebrütet. Unterschieden in der Größe der Kolonien legte ich keine größere Bedeutung bei, da sich ergab, daß dies den Trockenheitsverhältnissen der Platten entsprach, sich durch feuchtes Filtrierpapier beeinflussen ließ und quantitativ keine Unterschiede ergab.

Bei den Versuchen mit Reinkultur wurden jeweils mit 1 ccm der betreffenden, gut durchmischten Probe Agar-Zählplatten vom P_H-Wert 7,8 gegossen, die bei 37° bebrütet wurden. Die Keimzählung erfolgte nach 24 Std. Eine Versuchsreihe für die Wichtigkeit einer guten Durchmischung, insbesondere auch bei beweglichen Keimen, ergab folgende prozentualen günstigen Ergebnisse:

Aussaat von Colibakterien in sterilem Mainwasser. Nach 48stündigem Stehen bei 4° bzw. 15° Bestimmung des Keimgehaltes in verschiedenen Höhen, bezogen auf die Einsaat (= 100%).

Oberfläche	bei 4°	33,2%	bei 15°	52,1%
8 cm	„	42,4%	„	68,9%
4 cm	„	45,0%	„	79,7%
Boden	„	85,0%	„	213,0%
Gemischt	„	53,2%	„	107,8%
Mittel	„	52,1%	„	108,0%

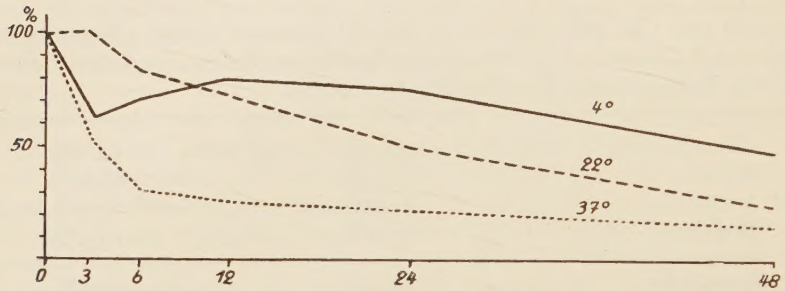
Ich möchte auch gleich hier die Fehlerquellen mit in Betracht ziehen, die sich beim Pipettieren und Auszählen ergeben haben. Für jeden Versuch wurden je 2 bis 3 Zählplatten gegossen, die in ihrer Keimzahl selten größere Wertunterschiede ergaben als im Durchschnitt einen Wert von ±5,1%. Dieser günstige Wert unterliegt selbstverständlich ebenfalls der Fehlerzahl, die sich beim Auszählen ergibt. Die meisten Platten konnten makroskopisch gezählt werden. (Die Aussaat gelang meistens mit Werten von 250 Keimen in ccm). Bei Werten von über 1000 ergab die Berechnung auf 100% eine vernunftgemäße Abrundung der hohen Zahlenwerte. Bei der Beurteilung der Werte ließ ich nun, um allen Fehlermöglichkeiten einen großen Spielraum zu lassen, eine Fehlergrenze von ± 10% gelten, d. h. daß ich den Schwankungen der Werte innerhalb dieses Bereiches keine entscheidende Bedeutung beimaß, sondern sie vernachlässigte.

Ebenso ergab sich durch die möglichst genaue Wiederholung der einzelnen Versuchsreihen ein Ausgleich, der dann ebenfalls für eine gewisse Norm der Verhältnisse sprechen dürfte. Trotzdem war ich mir darüber im klaren, daß ich bei diesen quantitativen Bestimmungen absolute Zahlen nicht erhalten konnte, sondern betrachte die Ergebnisse soweit als möglich als Vergleichswerte.

Anfangsversuche.

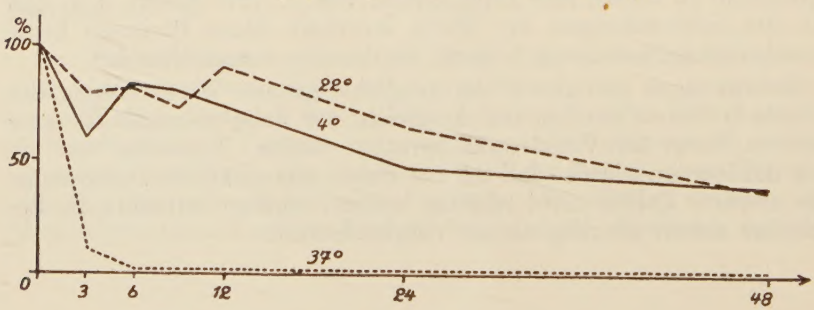
Die Keimzählung auf Drigalski-Platten von Wasserproben verschiedener Herkunft und wechselnder Temperatur ergab nun Werte, die ich, um eine Möglichkeit des Vergleiches zu haben, in Prozenten ausdrückte. Als 100% galt immer die sofortige Aussaat. Von der Entnahme bis zur Aussaat verging eine Zeitspanne von höchstens 10 Min. Die ersten Vergleiche wurden bei Eisschranktemperatur von 4° und Brutschranktemperaturen von 22° und 37° gemacht.

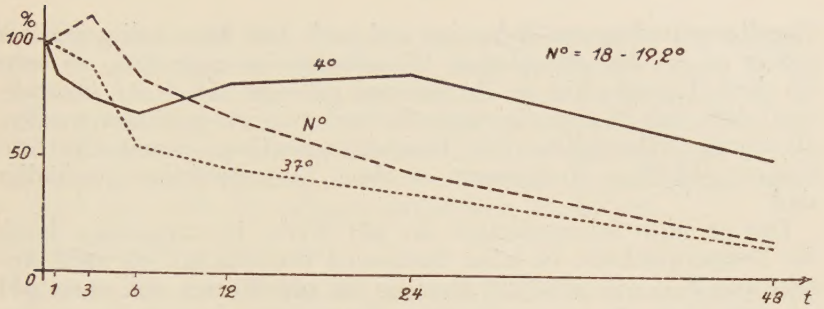
Aus 10 Versuchen ergab sich folgendes Bild:



Ohne nun im besonderen auf die Möglichkeiten der Keimzahländerung sofort einzugehen, ist besonders auffällig der rasche Abfall der Keimzahlen bei 37° und der anfängliche Abfall bei 4°, der sich jedoch nach kurzer Zeit erholt, um dann die nächste Zeit fast konstant zu bleiben. Der Abfall sowohl bei 4° als auch bei 37° war umso krasser, je niedriger die Ausgangstemperatur der Wasserprobe war. Dadurch wurde im Verlauf der Untersuchungen eine weitere Beobachtungstemperatur erforderlich, die ich als Normaltemperatur = N° bezeichnete und die jeweils der Ausgangstemperatur entsprach. Bei Einteilung der einzelnen Versuche nach diesen Gesichtspunkten ergaben sich hier bei den zwei normal gegebenen Ausgangstemperaturen zwischen 13,4 bis 15,8° und 18° bis 19,2° folgende Werte:

N° = 13,4°—15,8° (5 Versuchsreihen).





Möglichkeiten der Keimzahländerung.

Um zu einer Beurteilung der Einflüsse zu kommen, die in einer Wasserprobe eine Veränderung der Keimzahl ergeben, ziehe ich in Betracht, welchen Einflüssen die Bakterien in der Natur unterworfen sind. Die Keimzahlen sind so im allgemeinen abhängig

1. von der Temperatur
2. von den Nahrungsstoffen, Abbauprodukten, PH-Werten
3. von der Lichteinwirkung
4. von dem Sauerstoffgehalt
5. von dem Phagengehalt des Wassers
6. von den Kleinlebewesen (Flagellaten)
7. von der Konkurrenz der einzelnen Bakterienarten unter sich selbst und
8. von der Strömung.

Bei sachgemäßer Entnahme der Wasserprobe können sich die Verhältnisse bei der derzeitigen Methode nur in Bezug auf oben angeführte Verhältnisse verändern.

Vernachlässigen konnte ich bei der Beobachtung der Keimzahländerung des Bact. coli die Lichteinwirkung, da es sich zumeist doch um Wasserproben handelt, die aus Brunnen entnommen werden und sowieso keinen Lichteinfall besitzen. Vor allem aber ist nach Angabe von N e u m a r k das Bact. coli sehr lichtresistent. Es weist erst nach 4stündiger direkter Sonnenbestrahlung bzw. stündiger diffuser Tageslichteinwirkung Keimschädigungen auf.

Ebenso steht der Sauerstoffgehalt der Wasserprobe außerhalb der Betrachtung, da das Bact. coli als fakultativer Anaerobier leben kann, obwohl es bei aeroben Verhältnissen üppiger gedeiht als bei anaeroben Verhältnissen.

Die Strömung als solche hat nach den Versuchen von S i n g e r keine wesentliche Veränderung ergeben.

Die Protozoen, die in quantitativer Hinsicht im Grundwasser keine Rolle spielen, kann normalerweise bei ihrer daher relativ schwachen Einwirkungsmöglichkeit nur geringe Bedeutung beigemessen werden. Da jedoch nach einer Angabe von G e m ü n d die Preßtätigkeit von

Flagellaten pathogenen Bakterien und auch dem Bact. coli gegenüber größer ist als den eigentlichen Wasserbakterien gegenüber, so habe ich diese Tatsache hier in Erscheinung gebracht. Doch ist anzunehmen, daß auch hierbei diejenigen Bakterien zuerst gefressen werden, die durch Nährstoffmangel, Temperatureinflüsse, osmotische Störungen, pH-Wert Änderungen in ihrer Lebensfunktion geschädigt sind.

Den geringen Schwankungen der pH-Werte, hervorgerufen durch die Temperaturhöhe, ist keine Bedeutung beizumessen, da nach Angabe von N i s s l e erst Schädigungen bei pH-Werten von unter pH 4,5 und über 9,4 bei 24stündiger Einwirkung festgestellt worden sind.

Andere jedoch, sofern der Gehalt an gelösten Stoffen oder organische Verunreinigungen als Nährstoffe für die Bakterien dienen und eine chemische Umsetzung ermöglichen, was insbesondere bei dem Colibakterium andere PH-Werte ergeben kann.

So bleiben zunächst zur Beobachtung übrig:
Die Temperatur, die Nahrungsstoffe, die Konkurrenz anderer Bakterien und die Phagenwirkung.

Temperatureinwirkung.

Das Bact. coli gehört zu den mesophilen Bakterien. Sein Optimum der Generationsdauer liegt bei Temperaturen von 37—46,5°; bei 22° ist die Vermehrung erst bei dem sechsfachen an Zeit gleich der bei 37°, während gar bei 15° erst nach dem 12fachen der Zeit ein Achtel der Keimzahl wie bei 37° erreicht ist.

Das Abfallen der Coli-Keimzahl bei 37° erschien daher erst verwunderlich und das nächstliegende war nicht augenscheinlich genug, da der Zusatz von Kristallviolett zu den Drigalski-Platten das gewaltige Wachstum der spez. Wasserbakterien nicht zur Geltung kommen ließ. Doch schon bei der Hälfte der Norm an Zusatz von Kristallviolett zeigte sich sofort das fast rasenförmige Wachstum der Saprophyten.

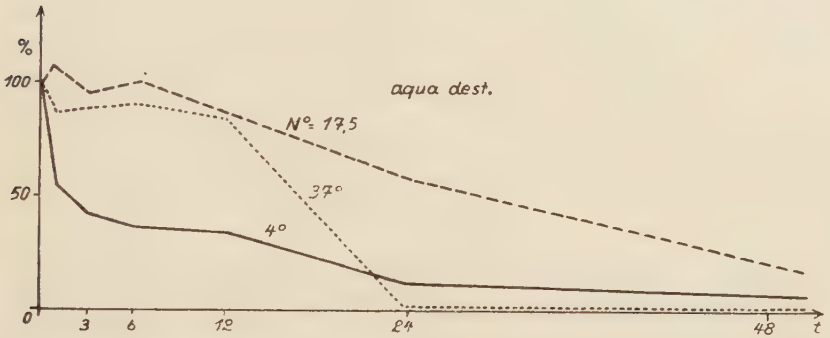
Konkurrenz der spez. Wasserbakterien.

Ich darf daher wohl annehmen, daß der Abfall der Keimzahlen des Colibakteriums bei 37° vor allem auf die Konkurrenz der anderen spez. Wasserbakterien zurückzuführen ist, die bei dem Kampf um das Dasein gegenüber den normalerweise im Wasser fremden Colibakterien, ein Optimum an Lebensbedingungen haben. In geringerem Maße ließ sich das auch bei 22° feststellen. Bei N° konnte ich annehmen, daß sich bereits ein natürlicher Ausgleich der einzelnen Bakterienarten im Werden und Vergehen gebildet hatte. Folgedessen können nur geringere Veränderungen, soweit es die Temperatureinflüsse allein

betrifft, stattfinden. Bei 4° findet nun praktisch keine Vermehrung statt. Es wäre also hier vielmehr die Frage der Konservierung zu betrachten. Ich nahm nun an, daß das Abfallen der Keimzahl bei 4° in den ersten Stunden mehr als Kälteschreck aufzufassen ist und daß das Bakterium eine gewisse Zeit braucht, um sich auf diese Kältewirkung einzustellen. Erst nach 5—6 Stunden Anpassungszeit nützt es dann seine volle Fortpflanzungsfähigkeit wieder aus.

Kulturversuche in aqua dest.

Um nun die Konkurrenz der anderen Bakterien auszuschalten und so genauere Werte der Temperatureinwirkung zu erhalten, stellte ich Versuche mit Reinkulturen an. Ich gab eine Aussaat von Colibakterien in steriles aqua dest. und in physiologische Kochsalzlösung. Ich erhielt dabei folgende Werte:



Trotz der Störung des osmotischen Verhältnisses, das zum Absinken der Keimzahlwerte in aqua dest. führt, kommt der Abfall der Keimzahlen bei 4° ebenso deutlich zum Vorschein wie bei den vorhergehenden Versuchen, ebenso wird durch das Fehlen der Saprophyten ein nur langsames Absinken der Keimzahlwerte bei N° und 37° bemerkt.

Kulturversuche in phys. NaCl-Lösung.

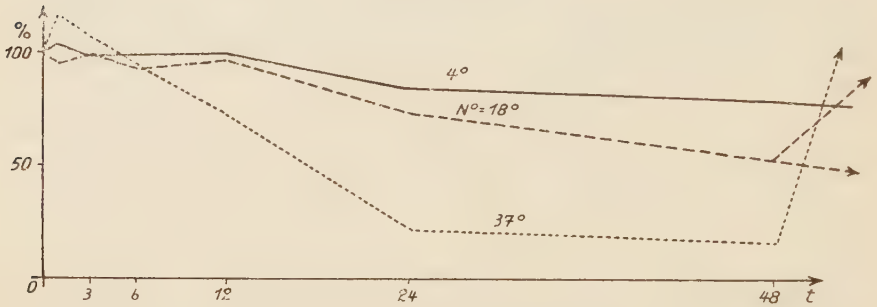
Bei der phys. Kochsalzlösung ergab sich bei 4° nach dem anfänglichen Absinken ein ungefähr konstanter Wert der Keimzahl, während bei N° und 37° nach einer bis 12 Stunden dauernden, scheinbaren Umstellungsperiode, eine ins praktisch unendlich gehende Vermehrung innerhalb der Beobachtungszeit stattfand.

Kulturversuche in sterilem Mainwasser.

Um bei den Kulturversuchen die natürlichen Verhältnisse besser zu erreichen, nahm ich im Autoklaven sterilisiertes Mainwasser zur weiteren Veruschsanordnung. Ich beimpfte es mit einer Abschwem-

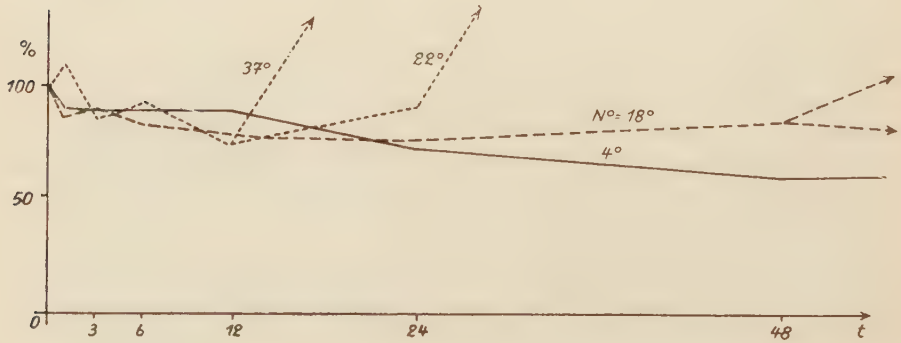
mung von Colibakterien und hatte erwartet, daß ich günstige Bedingungen für das Wachstum der Bakterien bei 37° und N° erhalten würde. Die chemische Beschaffenheit des Mainwassers ergab reichhaltige Werte an organischen Substanzen. Um so überraschter war ich, als in der bisherigen Beobachtungszeit von 48 Stunden nur ein Abfall der Keimzahlwerte sich ergab, der bei 37° und N° sogar weit unter den Werten von 4° lag.

Bei dem dritten Versuch zeigte sich jedoch ein leichtes Ansteigen der Werte, sodaß ich den Versuch auf 72 Stunden ausdehnte. Dabei ergab sich nun auch bei 37° und N° eine praktisch ins unendlich gehende Vermehrung. Ich erhielt nun bei 5 Versuchen folgende Werte:



Es zeigt sich also, daß bei 4° die Erhaltung der Keimzahl in der Beobachtungszeit nur um ungefähr 25% fällt, während bei N° ein Abfall des Wertes auf 50%, bei 37° um 80% stattfand, um dann bei den beiden letzten Werten ins Unendliche zu gehen.

Diese Verzögerung des Wachstums bei N° und 37° legte nahe, daß durch die Sterilisation im Autoklaven andere osmotische Verhältnisse geschaffen wurden, die sich dann allmählich wieder verloren, oder auf die sich das Bakterium anzupassen verstand.



Kulturversuche in filtr. Mainwasser.

Um nun einen Vergleich zu haben, stellte ich die gleiche Versuchsanordnung auf, nur nahm ich statt des sterilisierten Wassers ein durch Glasfilter keimfrei gemachtes Mainwasser. Das Ergebnis aus 4 Versuchen ergab die Kurve auf S. 12 unten.

Auch hier zeigt sich bei 4° nur ein Absinken der Werte bis zu 30%. Bei N° verhielten sich die Werte ähnlich konstant wie bei dem vorherigen Versuch, während bei 37° der ins praktisch unendlich gehende Anstieg schon nach 6 bzw. 12 Stunden einsetzte.

Um jedoch zu einem Vergleich zwischen den Versuchen der Wasserproben mit Keimzählung auf Drigalskiplatten und den reinen Kulturversuchen zu kommen, muß man in Betracht ziehen, daß die Verhältnisse innerhalb der Bakterien selbst noch verschieden sind. Die Bakterien bei den Kulturversuchen sind zwangsläufig fast nur voll lebensfähige Keime, während es sich bei den Wasserproben zumeist nur um wenige, frisch fäkale Bakterien handelte, dafür fanden sich aber um so mehr entartete, geschwächte oder geschädigte Bakterien, die zwar unter günstigen Bedingungen ihre Eigenschaften sich wieder erwerben können.

Bei Beobachtung dieser zwei grundsätzlichen Unterschiede, lassen sich die Werte in Beziehung bringen.

Die Schwankungen der Werte sind jedoch nicht nur allein abhängig von der zuerst erwähnten Konkurrenz der spez. Wasserbakterien und der Temperatur, sondern aufs engste damit verknüpft ist die Menge und die Art der im Wasser befindlichen organischen Verunreinigungen und der gelösten Stoffe.

Organische Verunreinigungen.

Die Rolle der organischen Verunreinigungen kann eine doppelte sein: entweder sie sind Nährstoffe für die Bakterien und damit für das Wachstum fördernd, oder es sind bereits regressive Stoffwechselprodukte (z. B. von Saprophyten) die die Bakterien bereits schädigen können. Versuche zeigten nun, daß sowohl bei sterilem wie auch filtriertem Wasser dem ¼ ccm alkalischer Nährbrühe auf 100 ccm Wasser zugesetzt worden war, sich gleiche Werte ergaben, die der Generationsdauer des Bakterium Coli angepaßt waren. Bei 37° erfolgte der ins praktisch unendlich gehende Anstieg bereits nach 3 Stunden; bei 22° wurde er erst nach 6 Stunden festgestellt; bei 4° jedoch blieben die Werte bis 48 Stunden konstant, um dann erst bei 72 Stunden einen ersten schwachen Abfall zu verzeichnen. Diese an sich selbstverständlichen Werte, zeigten im Rahmen dieser Arbeit nur nochmals, daß selbst bei 4°, wo praktisch nur eine Konservierung in Frage kommt, der Gehalt an organischer Substanz wichtig ist bei der Erhaltung der Bakterien, sodaß die Kälteeinflüsse nicht so zur Auswirkung kommen.

Gelöste Stoffe.

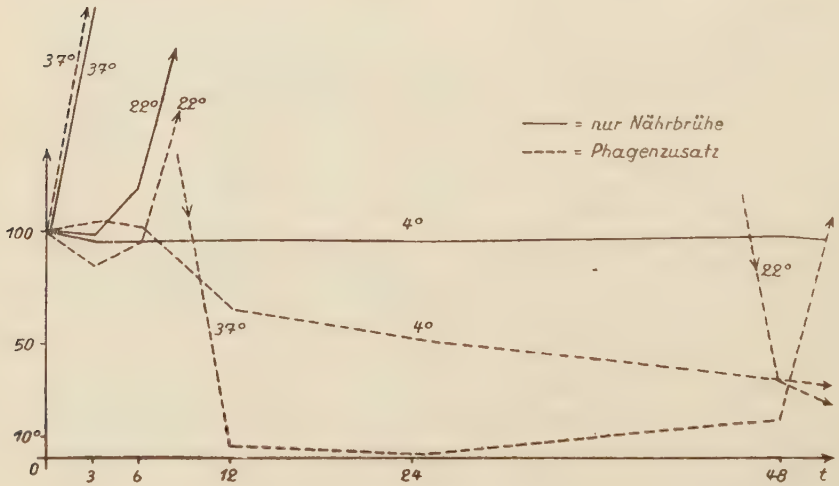
Einfügen möchte ich hier eine Untersuchung von M. P r i c a, der sich mit den im Wasser gelösten Stoffen befaßte. Er brachte den Nachweis, daß 0,0738 g kolloidal gelöste Kieselsäure in 1 Ltr. Wasser bei Zimmertemperatur einen Abfall der Keimzahlen in 24 Stunden bei Bakterium coli von 16 500 auf 0 hervorrief, während in der Kontrolle (aqua dest. steril) nur von 16 750 auf 1 452.

Bei 37° nach 6 Stunden von 1 696 auf 0. In der Kontrolle 6 374 auf 4 708. Ebenfalls ein Ergebnis, das auf die Wichtigkeit und den notwendigen Zusammenhang mit der chem. Untersuchung hinweist.

Phagen.

Bei sämtlichen Untersuchungen von Wasserproben achtete ich auch auf das Vorhandensein von Phagen, der in den untersuchten Mainwasserproben fast regelmäßig durch Anreicherung nachgewiesen werden konnte. Einen Unterschied im Wachstum der Kolonien konnte ich im Vergleich zu den phagen-freien Wasserproben nicht direkt feststellen. Ich sah auch makroskopisch nie die gelappte oder durchbrochene Flatterform, die ich bei den interessehalbe angesetzten Kulturversuchen deutlich erhielt. Von Bedeutung erschien mir auch das quantitative Ergebnis dieser Versuche. Filtriertes Leitungswasser mit einem Zusatz von ½ ccm von Bakt.coli-freier, jedoch phagenhaltiger Nährbrühe, bekam eine Einsaat von ungefähr 250 Bakterien. Als Kontrolle wurde ebenfalls filtriertes Leitungswasser mit Zusatz von ½ ccm steriler Nährbrühe und gleicher Einsaat verwendet.

Das Ergebnis ließ sich folgenderweise darstellen:



Die Kurve zeigt deutlich, die Einwirkung des Coli-Phagen bei 4°. Ohne Zusatz von Phagen halten sich die Werte bei 4° konstant, während bei dem phagenhaltigen Wasser ein Abfall um ungefähr 25% schon nach 12 Std. zu verzeichnen ist, der sich bei 48 Std. bis auf 60% auswirkt. Bei 37° und N° = 22° war der Zeitunterschied der Phageneinwirkungszeit interessant, die bei 37° entsprechend dem rascheren Wachstum der Bakterien von 12—48 Stunden dauerte, während bei N° erst bei 48 Std. die Einwirkungszeit anfing, nachdem bei beiden Temperaturen erst ein gewaltiger Anstieg zu verzeichnen war. Der Anstieg nach der Einwirkungszeit begann bei 37° entsprechend früher, während er bei N° außerhalb der Beobachtungszeit (also länger als 72 Std.) lag.

Zusammenfassung.

Hiermit habe ich nun die wichtigsten Faktoren besprochen, die in der praktischen Durchführung einer Wasseruntersuchung von Bedeutung sein können. Man kann also über das Verhalten des Bakt. Coli in Wasserproben folgendes sagen:

In keinem Falle erwies es sich, daß bei 4° eine Schädigung innerhalb der Beobachtungszeit von 72 Std. auftrat, die einen Nachweis ganz unmöglich machte.

Prozentual verhält sich die Schädigung bei 4° entsprechend der Zeit. Nach 24 Std. also eine Schädigung um ungefähr 24%, nach 48 Std. um 48%.

Findet eine Untersuchung innerhalb von 12 Stunden statt, so ist nur eine Temperaturerhöhung zu vermeiden, eine langsame Abkühlung auf Eisschranktemperatur (4°) ergibt die besten Werte, eine sofortige Durchkühlung auf 4° kann eine Schädigung bis zu 50% innerhalb der ersten 2 bis 4 Stunden hervorrufen.

Jede Temperaturerhöhung über N° begünstigt das Wachstum der spez. Wasserbakt. und ruft somit eine Schädigung der Colibakterien hervor. Wichtig ist hierbei die Höhe der Ausgangstemperatur.

Eine Thermosflasche genügt bei h o h e n Ausgangstemperaturen nicht, bei niederen Temperaturen innerhalb kurzer Zeit, solange eine Erhöhung der Temperatur sicher zu vermeiden ist.

So sind absolute Zahlenwerte praktisch nicht zu erhalten, da bereits innerhalb kurzer Zeit bei allen Temperaturgraden Veränderungen eintreten können, die abhängig sind, wie vorausgehend erwähnt, von der Konkurrenz der spez. Wasserbakterien, von der Phagenwirkung, von dem Gehalt an organischen Verunreinigungen und von den chem. gelösten Stoffen.

Diese Wirkungen können bei Temperaturen über N° so groß sein, daß ein Nachweis der Coli-Bakterien in Frage gestellt sein kann. Dieser Fall tritt um so leichter ein, je höher die Ausgangstemperatur ist.

Ebenso gefährlich ist es für die Gewinnung guter Werte, wenn nach einer anfänglich guten und angebrachten langsamen Durchkühlung in Eiskästen, die Menge des Eises nicht ausreicht, sodaß dann während des Transportes noch eine Temperaturerhöhung eintreten kann. Es sollte daher auch immer die Temperatur bei der Verarbeitung im Labor gemessen werden, um einen entsprechenden und notwendigen Vergleich zur Ausgangstemperatur zu haben.

Wichtig also ist, daß diese Beobachtung bei der Beurteilung der erhaltenen Werte sinngemäß zu berücksichtigen ist. Im Sinne einer gewissenhaften Untersuchung ist es erforderlich, wie es anfangs schon erwähnt wurde, daß zu der bakteriologischen Untersuchung unbedingt eine chemische gehört, die sich den ortsmäßigen und geologischen Beobachtungen anpaßt, sodaß der Zusammenhang in der Gesamtbeurteilung der erhaltenen Werte gewahrt bleibt.

Am Schlusse meiner Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. M. K n o r r für die liebenswürdige Überlassung der Arbeit und die stets gerne gegebenen Anregungen. Frl. Dr. Stenger möchte ich ebenfalls für ihre werte Unterstützung und die stete Bereitwilligkeit an dieser Stelle danken und die nette Kameradschaftlichkeit des gesamten Instituts erwähnen.

SCHRIFTTUM.

Barber, J.: J. inf. Dis. *5*, 379 (1908).
Bürger, B.: Grundzüge der Trinkwasserhygiene.
Burri, R.: Hyg. Rdsch. 1895.
Galdwell, E. u. W. Parr: Americ. J-pupl. Health, *23*, 467.
Fromme, W.: Ztschr. f. Hyg. 1910.
Gärtner, A.: Ztschr. f. Hyg. *67*, 1910.
Gayfree, E., H. W. Hachler, W. A. Buice: J. of the American Water Work Association, 1929, S. 528.
Gemünd, W.: Hyg. Rdsch. 1916, S. 489, 521.
Kaiser, M.: Arch. f. Hyg. *52*, 121.
Kolle-Kraus-Uhlenhut: Pathogene Mikroorganismen.
Lange, L.: Unters. über das Bact. communeu. verwandte Bakterien.
Neumark: Beitr. zur Frage der desinfizierenden Wirkung des Lichtes, a. d. Hyg. Inst. d. tierärztl. Hochschule Berlin 1907.
Ohlmüller-Spitta: Untersuchung und Beurteilung des Wassers u. des Abwassers 1931.
Petruschky u. Puch: Ztschr. f. Hyg. *43*, 304.
Prica, M.: Ztschr. f. Hyg. *116*, 385.
Singer, E.: Arch. f. Bakt. *95*, Nr. 17/18. 19/20.
Saizo: Arch. f. Hyg. Bd. *63*, 215.
Schübel, F. W.: Arch. f. Hyg. *116*, H. 6, 1936.
Veröff. a. d. Gebiete der Medizinalverwalt. Bd. 38, H. L.
Wolfhügel-Riedel: Arb. a. d. Reichsges.-Amt 1, 455 (1886).

LEBENSLAUF.

Ich, Helmut Kraft, bin am 21. 12. 1912 zu Schirmeck als drittes Kind des Oberforstrates Adolf Kraft und seiner Ehefrau Luise geb. Nestler geboren. Ostern 1933 legte ich am Realgymnasium zu Karlsruhe die Reifeprüfung ab. Ich studierte Medizin an den Universitäten Freiburg, Berlin, Königsberg, Würzburg. Meine ärztliche Vorprüfung legte ich im März 1937 und das Staatsexamen im Sommer 1939 jeweils in Berlin ab.

Bis zu meinen Eintritt in die Wehrmacht am 1. 10. 35 als Fahnenjunker im Sanitätskorps war ich seit 1929 aktiv in der Hitlerjugend tätig gewesen.

gez. Helmut Kraft.

Hiermit versichere ich ehrenwörtlich, vorstehende Arbeit selbständig verfaßt und keine anderen Hilfsmittel als die darin angegebenen verwendet zu haben.

Helmut Kraft.